

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

reference ⑧

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international(43) Date de la publication internationale
14 décembre 2000 (14.12.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/75626 A1(51) Classification internationale des brevets⁷: G01N 5/02, G01G 3/12, G01N 33/487, B01L 3/00(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/01556

(22) Date de dépôt international: 7 juin 2000 (07.06.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/07201 8 juin 1999 (08.06.1999) FR(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US): COM-
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];
31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement): PELTIE,
Philippe [FR/FR]; Vers Le Mont, F-38760 Saint Paul
de Varces (FR). CAILLAT, Patrice [FR/FR]; 10, rue de
Provence, F-38130 Echirolles (FR).(74) Mandataire: WEBER, Etienne; Brevatome, 3, rue du
Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).

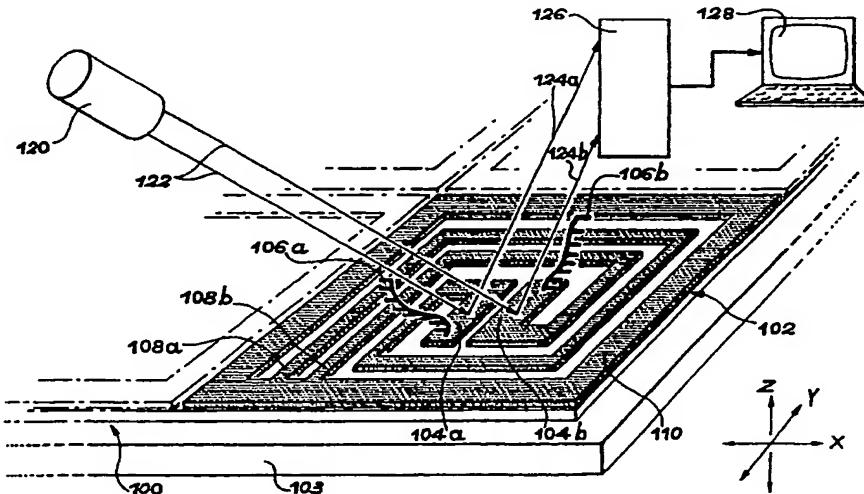
(81) États désignés (national): JP, US.

(84) États désignés (régional): brevet européen (AT, BE, CH,
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE).

Publiée:

— Avec rapport de recherche internationale.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: PLATFORM FOR CHEMICAL OR BIOLOGICAL ANALYSIS WITH MICROBALANCES, ANALYSIS DEVICE
AND METHOD USING SAME(54) Titre: PLATE-FORME D'ANALYSE CHIMIQUE OU BIOLOGIQUE A MICROBALANCES, DISPOSITIF ET PROCEDE
D'ANALYSE UTILISANT LA PLATE-FORME

WO 00/75626 A1

(57) Abstract: The invention concerns a platform for chemical or biological analysis (102) comprising at least a fixed support (110) and at least a first mobile support (104a) capable of being lined with reagent, the mobile support being linked to the fixed support by first flexible retaining means (108a) capable of bending in response to a modification in a weight supported by the first mobile support, brought about by a chemical or biological reaction of said reagent.

[Suite sur la page suivante]



En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé: Plate-forme d'analyse biologique ou chimique (102) comportant au moins un support fixe (110) et au moins un premier support mobile (104a) susceptible d'être garni de réactif, le support mobile étant relié au support fixe par des premiers moyens de maintien flexibles (108a) susceptibles d'être infléchis en réponse à une modification d'un poids supporté par le premier support mobile, provoquée par une réaction chimique ou biologique dudit réactif.

**PLATE-FORME D'ANALYSE CHIMIQUE OU BIOLOGIQUE A
MICROBALANCES, DISPOSITIF ET PROCEDE D'ANALYSE
UTILISANT LA PLATE-FORME.**

5 **Domaine technique**

La présente invention concerne une plate-forme d'analyse chimique ou biologique.

De telles plates-formes sont généralement désignées par puces de détection ou biopuces, selon le 10 domaine d'application.

Elle comportent une pluralité de sites, par exemple sous la forme de microcuvettes. Sur les sites sont placés des réactifs, identiques ou différents pour chaque site, qui sont susceptibles de réagir 15 sélectivement avec une ou plusieurs composants d'un milieu à analyser ou analyte.

Dans le présent exposé, les termes réactif et réaction sont compris dans un sens très large englobant à la fois les réactions chimiques au sens usuel du 20 terme et les phénomènes de complexation, ou d'hybridation qui concernent plus spécifiquement le matériel biologique, tel que par exemple les brins d'ADN.

L'invention concerne également un procédé et un 25 dispositif d'analyse permettant la lecture des sites de la plate-forme d'analyse.

La lecture peut être la simple détermination pour chaque site, si une réaction a eu lieu ou non. Elle peut aussi comporter une quantification des 30 réactions qui ont eu lieu.

L'invention trouve des applications dans les domaines de l'analyse chimique ou biologique, et en particulier pour le séquençage de l'ADN.

5 Etat de la technique antérieure

Un exemple particulier d'analyse qu'il est possible d'effectuer au moyen de plates-formes d'analyse est, comme indiqué ci-dessus le séquençage de l'ADN.

10 Les plates-formes d'analyse, ou biopuces, comportent un grand nombre de sites sur lesquels sont initialement greffés des brins d'ADN appelés sondes. Une sonde différente est greffée sur chaque site et constitue le "réactif".

15 Lorsqu'une telle plate-forme est mise en contact avec un milieu à analyser contenant également des brins d'ADN, une hybridation peut avoir lieu entre les brins présents dans le milieu et les sondes qui leur sont appariés. Une hybridation sélective a donc 20 lieu.

Après cette opération, l'examen des sites permet de déterminer ceux qui ont réagi, c'est-à-dire ceux dont les sondes ont fait l'objet d'une hybridation et de connaître ainsi la composition du milieu analysé 25 ou tout au moins certains constituants du milieu analysé.

On connaît différentes techniques permettant d'identifier les sites qui ont réagi.

Une première technique consiste à détecter la fluorescence d'un marqueur accroché à l'échantillon d'ADN à analyser.

Une autre technique consiste à détecter des charges électriques portées par le squelette phosphaté des molécules d'ADN au moyen d'un transistor à effet de champ.

Ces techniques sont intéressantes mais nécessitent une préparation des molécules pour leur conférer la propriété électrique ou émissive qui sert à leur reconnaissance.

On connaît également une technique dans laquelle les sondes d'ADN sont fixées sur une plaque de quartz que l'on fait vibrer.

Lorsque la sonde fait l'objet d'une hybridation, sa masse augmente et la fréquence de résonance de la plaque de quartz diminue. Ce phénomène est utilisé pour détecter l'hybridation.

Toutefois, pour obtenir un bon résultat, la surface de la plaque de quartz doit être de l'ordre de quelques millimètres carrés. Or, une telle surface n'est pas compatible avec les impératifs d'une intégration d'un nombre toujours plus grand de sites.

L'augmentation du nombre de sites sur les puces s'accompagne généralement d'une réduction de leur taille, de façon à limiter la surface totale de la puce.

On connaît encore une autre technique permettant de lire les sites sans faire appel à des marqueurs. Cette technique fait appel à un microscope à

force atomique (AFM) pour "cartographier la surface" de la puce. L'extrême précision de cet appareil permet de détecter directement l'hybridation. Le principe de l'AFM repose sur la déformation d'une micropoutre que 5 l'on approche de la surface de la puce, la déformation provoquée par des interactions entre une pointe à l'extrémité de la poutre et la surface balayée est mesurée simplement par un faisceau laser réfléchi par cette poutre.

10 Avec un bras de levier de 10 cm, une déformation de l'ordre du nanomètre infléchit le faisceau laser de plusieurs microns, ce qui peut facilement être mis en évidence par un réseau de photodétecteurs.

15 La microscopie par force atomique souffre cependant d'un certain nombre de limitations. En effet, sa mise en oeuvre doit avoir lieu de préférence en salle blanche et il faut un temps non négligeable pour analyser un site d'une biopuce. Il n'est donc pas 20 conceivable d'utiliser un microscope AFM pour mesurer des centaines de sites en parallèle. Enfin, son coût est rédhibitoire actuellement pour en faire un simple lecteur de puces.

25 Une description plus détaillée des microscopes AFM et des techniques associées peut être trouvée dans les documents (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7) dont les références sont précisées à la fin de la présente description.

Exposé de l'invention

La présente invention a pour but de proposer une plate-forme d'analyse ainsi qu'un dispositif de lecture ne présentant pas les limitations évoquées ci-dessus.

En particulier, un but est de proposer une plate-forme d'analyse et une méthode d'analyse permettant de détecter les réactions ou hybridations qui ont lieu sans faire appel à des marqueurs fluorescents et sans préparation préalable des produits à analyser.

Un autre but est de permettre la quantification des réactions qui ont eu lieu.

Un but est encore de proposer une plate-forme d'analyse avec des sites miniaturisés et pouvant comporter un nombre important de tels sites.

L'invention a également pour but de proposer une méthode d'analyse pouvant être mise en oeuvre sans avoir recours à une salle blanche, et qui ne perturbe pas le site analysé.

Enfin, un but de l'invention est de proposer une plate-forme et un dispositif de lecture simples, fiables et économiques.

Pour atteindre ces buts, l'invention a plus précisément pour objet une plate-forme d'analyse biologique ou chimique comportant un support fixe et au moins un premier support mobile susceptible d'être garni de réactif, le support, mobile étant relié au support fixe par des premiers moyens de maintien flexibles susceptibles d'être infléchis en réponse à

une modification d'un poids supporté par le premier support mobile, provoquée par une réaction dudit réactif.

Chaque support mobile ou au moins une partie de 5 ces supports peuvent constituer un site d'analyse tel qu'évoqué précédemment, en étant garni avec un réactif chimique ou biologique. Les supports mobiles d'une même plate-forme peuvent comporter des réactifs différents ou identiques.

10 Lors d'une réaction chimique ou biologique, par exemple lors d'une hybridation d'un brin d'ADN avec une sonde d'ADN, le poids supporté par le support mobile concerné est modifié.

15 En particulier, ce poids est augmenté lors d'une hybridation.

Le poids peut aussi augmenter ou diminuer en raison d'une modification des poids moléculaires du réactif, lorsque celui-ci réagit chimiquement.

20 Comme le support mobile est maintenu par des moyens flexibles, c'est-à-dire présentant une certaine raideur, la modification du poids supporté par le support mobile se traduit par un infléchissement plus ou moins important de ces moyens.

25 Les moyens de maintien flexibles comportent au moins une poutre flexible présentant une première extrémité solidaire du support mobile et une deuxième extrémité solidaire du support fixe. On peut noter que, dans une réalisation simplifiée, le support mobile peut être formé par une portion de la poutre flexible, de

préférence au voisinage de l'extrémité mobile de la poutre.

La poutre est une poutre repliée, par exemple en spirale. Le fait de replier la poutre en spirale 5 permet d'augmenter sa longueur et donc la sensibilité du dispositif.

Plus précisément, l'invention permet une mesure de l'amplitude du déplacement du support mobile grâce à l'utilisation de moyens de maintien présentant une 10 géométrie assurant une grande sensibilité définie par le rapport entre le poids et l'amplitude du déplacement. Plus la poutre présente un rapport longueur/section important, plus sa sensibilité est grande. Aussi, pour avoir une plate-forme présentant un 15 ou plusieurs sites d'analyses sur une surface réduite, l'invention propose d'utiliser des poutres repliées dans une forme de spirale carrée ou circulaire, par exemple.

L'extrémité fixe de la poutre correspond par 20 exemple à l'extrémité extérieure de la spirale, tandis que l'extrémité centrale, libre, porte le support mobile.

Dans une réalisation perfectionnée de la plate-forme, celle-ci peut comporter au moins un second 25 support mobile associé au premier support mobile, le deuxième support mobile étant relié audit support fixe par des seconds moyens de maintien flexibles, également sous la forme d'une poutre repliée. Le deuxième support mobile est de préférence garni d'un élément de même 30 masse que le réactif qui se trouve sur le premier

support mobile, mais qui ne réagit pas avec l'analyte à tester. Il s'agit par exemple du même réactif que celui garnissant le premier support, mais neutralisé. Par ailleurs, les premier et second moyens de maintien, 5 avec les supports mobiles associés, peuvent avantageusement présenter la même raideur.

De préférence, les premier et deuxième supports mobiles peuvent être adjacents. Le deuxième support mobile n'est pas utilisé comme site d'analyse, mais 10 sert de référence pour effectuer des mesures différentielles. Ces mesures sont alors davantage affranchies des conditions de mesure et conduisent à une meilleure sensibilité.

Bien que non indispensable, l'utilisation de 15 support mobiles doubles est particulièrement appropriée lorsqu'on souhaite quantifier une réaction qui a eu lieu, en mesurant de combien le poids du réactif s'est modifié.

Ceci permet par exemple de connaître la 20 longueur et/ou le nombre de brins d'ADN hybridés.

Dans une analyse plus sommaire, de type tout ou rien, une précision de mesure moindre avec un dispositif simplifié peut être préférée.

Dans une réalisation particulière, la plate-forme peut comporter une première poutre flexible pour le maintien du premier support mobile, et une deuxième poutre flexible pour le maintien du second support mobile, les première et deuxième poutres présentant des tronçons parallèles juxtaposés. 25

Grâce aux tronçons parallèles juxtaposés les poutres flexibles de chaque paire de supports mobiles sont sensiblement soumises aux mêmes conditions extérieures de mesure et un gain important en terme 5 d'encombrement peut être obtenu.

Comme cela ressortira plus clairement de la suite de la description, la mesure de la déflexion, c'est-à-dire du déplacement des supports mobiles peut faire appel à la réflexion d'un faisceau laser.

10 A cet effet, le support mobile ou une partie solidaire du support mobile peut comporter une surface réfléchissante pour un faisceau laser.

15 L'invention concerne également un dispositif de lecture d'une plate-forme d'analyse telle que décrite. Le dispositif comprend une source de lumière apte à produire un faisceau de lumière de lecture, des moyens pour diriger le faisceau vers au moins un support mobile, et des moyens de réception d'un faisceau réfléchi provenant du support mobile, et de détection 20 de déplacements dudit faisceau réfléchi.

Les moyens de réception du faisceau réfléchi et de détection de ses déplacements peuvent comporter une pluralité de photodétecteurs. Lorsque les photodétecteurs sont balayés par le faisceau réfléchi, 25 l'amplitude de déplacement du faisceau est déterminé, par exemple, en fonction du nombre de photodétecteurs balayés.

30 Comme l'amplitude de déplacement du faisceau est liée au déplacement du support mobile ou à l'infléchissement des moyens flexibles de maintien du

support mobile, il est possible de calculer cette valeur.

La valeur correspondant au déplacement du support mobile est une valeur de sortie du dispositif 5 qui peut être affichée ou également enregistrée en vue d'un traitement de données ultérieur.

Le dispositif peut encore comporter des moyens de déplacement relatif du faisceau de lecture et de la plate-forme pour balayer avec le faisceau une pluralité 10 de supports mobiles de la plate-forme.

Ces moyens permettent d'explorer successivement une pluralité de sites, c'est-à-dire une pluralité de supports mobiles. Ils comportent par exemple un plateau tournant ou une table de translation pour déplacer la 15 plate-forme d'analyse devant une source de lumière de lecture.

La source de lumière de lecture et les moyens de réception du faisceau réfléchi peuvent également être conçus pour pouvoir se déplacer.

20 Enfin, une pluralité de sources de lumière de lecture associées à une pluralité de moyens de réception de faisceaux réfléchis peuvent être prévus en vue d'une lecture simultanée d'une pluralité de sites.

L'invention concerne encore un procédé 25 d'analyse biologique ou chimique utilisant une plate-forme d'analyse et éventuellement un dispositif de lecture tels que décrits.

Selon ce procédé :

- on équipe au moins un support mobile d'un réactif dont le poids est susceptible d'être modifié lors d'une réaction chimique ou biologique,
- on met en contact le support avec un milieu à analyser susceptible de contenir des espèces pouvant réagir avec ledit réactif de façon à modifier son poids,
- on détecte un éventuel déplacement du support mobile par l'intermédiaire d'un faisceau de lumière dirigé vers et réfléchi depuis le support mobile.

La détection du déplacement du support mobile peut être soit une simple détection de type tout ou rien, c'est-à-dire une détection dont l'objet est de déterminer si le support mobile s'est déplacé ou non.

La détection peut aussi avoir pour objet de mesurer l'amplitude du déplacement du support mobile, ce qui permet de calculer, en connaissant la raideur des moyens flexibles de maintien du support mobile, la modification du poids de la structure mobile.

La détection, c'est-à-dire la mesure de l'amplitude de déplacement du support mobile, peut, comme évoqué précédemment, être une mesure absolue ou une mesure relative par rapport à un deuxième support mobile, sensiblement identique, mais neutre.

Enfin, l'invention a pour objet un procédé de fabrication d'une plate-forme d'analyse telle que décrite. Selon ce procédé :

- on forme un masque de gravure sur un substrat ayant une couche sacrificielle disposée entre une couche mince superficielle et une couche de base, le masque

de gravure présentant un motif qui définit l'emplacement et les dimensions du support mobile et des moyens de maintien flexible,

- on met en forme par gravure la couche mince superficielle selon le motif du masque,
- 5 - on élimine sélectivement la couche sacrificielle pour libérer le support mobile et les moyens de maintien associés.

Les gravures mises en œuvre d'une part pour la mise en forme de la couche mince superficielle et d'autre part pour l'élimination locale de la couche sacrificielle sont de préférence des gravures sélectives permettant d'attaquer préférentiellement le matériau de la couche mince superficielle ou celui de 15 la couche sacrificielle enterrée.

Le substrat utilisé est, par exemple, un substrat du type silicium sur isolant (SOI) dans lequel la couche de base et la couche mince superficielle sont en silicium et dans lequel la couche enterrée est en 20 oxyde de silicium.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention ressortiront mieux de la description qui va suivre, en référence aux figures des dessins annexés. Cette description est donnée à titre purement 25 illustratif et non limitatif.

Brève description des figures

- La figure 1 est une représentation schématique et simplifiée d'une partie d'une plate-

forme d'analyse et d'un dispositif de lecture, conformes à l'invention.

- La figure 2 est un schéma également simplifié illustrant le principe de lecture de la plate-forme.

5 - La figure 3 est un graphique indiquant une amplitude de déflexion de supports mobiles de différentes plates-formes en fonction d'une variation du poids supporté par des supports mobiles de ces plates-formes.

10 - Les figures 4 à 8 sont des coupes schématiques d'un substrat, illustrant des étapes successives de la fabrication d'une plate-forme d'analyse conforme à l'invention.

15

Description détaillée de modes de mise en oeuvre de l'invention

La description qui suit se rapporte plus particulièrement à un site d'analyse particulier d'une 20 plate-forme. il convient cependant de garder à l'esprit qu'une même plate-forme peut comporter un grand nombre de tels sites.

A titre d'exemple, une même plate-forme peut comporter jusqu'à 1000 sites d'analyse.

25 Sur la figure 1, la référence 102 désigne un site particulier d'une plate-forme 100 équipée d'une pluralité de sites.

Chaque site comprend, deux supports mobiles 104a, 104b associés.

Le premier support mobile 104a est équipé d'un ou plusieurs brins d'ADN 106a greffés à sa surface et susceptibles de s'hybrider sélectivement avec des brins appariés se trouvant dans une solution ou un milieu à analyser.

Le deuxième support mobile 104b, associé au premier, est disposé en son voisinage et est équipé de brins d'ADN identiques 106b mais neutralisés, c'est-à-dire inhybridables, ou d'une molécule de même poids. Il peut également être dépourvu de réactif. Les deux supports mobiles, bien que voisins sont indépendants l'un de l'autre. Le deuxième support mobile sert de "référence" puisque porteur d'une sonde neutralisée. La lecture après hybridation est une lecture différentielle entre la défexion de la poutre 108a portant le premier support mobile et celle d'une poutre 108b portant le deuxième support mobile.

Chaque support mobile est relié à un support fixe 110 par l'intermédiaire respectivement d'une poutre flexible 108a, 108b. Le support fixe 110 est par exemple un cadre rigide de la plate-forme s'étendant entre les sites ou à la périphérie des sites 100.

On observe sur la figure que les supports mobiles 104a, 104b sont simplement formés par les extrémités libres des poutres flexibles 108a, 108b. A cet effet, les extrémités libres des poutres sont élargies.

Les poutres flexibles sont repliées selon un motif en spirale carrée. Elles présentent une extrémité fixe solidaire du support fixe 110 et une extrémité

mobile solidaire respectivement du support mobile associé ou formant directement le support mobile.

Sur l'exemple de la figure, les poutres flexibles 108a, 108b de chaque site s'étendent de façon concentrique de manière à présenter des segments rectilignes parallèles et adjacents.

La longueur des segments extérieurs, les plus longs est par exemple de l'ordre de 100 à 150 μm , ce qui correspond sensiblement à la dimension du côté d'un site 102.

Les poutres qui ne sont maintenues que par leur extrémité fixe sont susceptibles de s'infléchir en réponse à une modification du poids supporté par les supports mobiles correspondants.

15 L'inflexion, et donc le déplacement des supports a lieu préférentiellement selon une direction z, indiquée sur la figure, qui est perpendiculaire au plan principal de la plate-forme.

Une sensibilité maximale de mesure est obtenue 20 lorsque la direction z est sensiblement confondue avec le champ de gravitation terrestre, ce qui a lieu naturellement en disposant la plate-forme sur un plan de travail horizontal.

25 L'amplitude de la déflexion en réponse à une modification de poids donnée dépend d'un grand nombre de paramètres. Parmi ceux-ci, on peut citer la longueur et la forme des poutres 108a, 108b, leur épaisseur, leur largeur et le matériau utilisé. Ces paramètres peuvent être ajustés pour obtenir une constante de 30 raideur souhaitée.

Des exemples de choix possibles pour les paramètres sont indiqués dans la suite de la description, en relation avec la figure 4.

Il convient de préciser que différentes formes 5 de poutre flexible peuvent être envisagées. De plus, d'autres réalisations des moyens flexibles de maintien du support mobile peuvent être conçus.

La référence 120 désigne une source de lumière de lecture. Il s'agit par exemple d'un laser émettant 10 un ou plusieurs faisceaux parallèles 122.

Le faisceau laser est dirigé vers les supports mobiles ou il se réfléchit. La réflexion peut avoir lieu sur les supports mobiles, sur une extrémité des poutres flexibles ou éventuellement sur des surfaces 15 réfléchissantes solidaires des supports mobiles.

Le ou les faisceaux réfléchis 124a, 124b sont dirigés vers un ensemble de détecteurs photoélectriques 126 capables de détecter un déplacement des faisceaux et éventuellement de mesurer l'amplitude des 20 déplacements.

Les photodétecteurs sont reliés à des moyens d'enregistrement et d'exploitation, par exemple sous la forme d'un ordinateur 128.

Dans l'exemple de la figure, deux faisceaux 25 124a et 124b sont réfléchis à partir des deux supports mobiles 104a et 104b.

La réception des deux faisceaux sur les détecteurs photoélectriques permet soit d'effectuer 30 deux mesures indépendantes, soit d'effectuer une mesure différentielle.

Dans l'exemple illustré, la plate-forme 100 est disposée sur une table de translation 103 permettant de déplacer la plate-forme 100 selon deux directions X et Y, perpendiculaires à la direction Z déjà mentionnée.

5 Le déplacement de la plate-forme permet de balayer plusieurs sites avec la même source de lumière, pour des mesures successives.

La source de lumière 120 et les détecteurs photoélectriques 126 peuvent également être conçus pour 10 pouvoir être déplacés, si nécessaire.

La figure 2 montre schématiquement comment la défexion des moyens de maintien flexibles se traduit par un déplacement du faisceau réfléchi.

15 Sur la figure 2, des éléments identiques ou similaires à ceux de la figure 1 portent les mêmes références auxquelles on a ajouté 100.

La figure 2 montre un support mobile 204, maintenu par une poutre flexible 208, de longueur L, la 20 longueur L étant mesurée d'un point fixe jusqu'au centre de gravité du support mobile. (Pour des raisons de simplification, la poutre de la figure 2 est une poutre droite). Le support est représenté en trait plein dans sa position de repos et dans une position 25 dans laquelle la poutre est infléchie. Cette deuxième position appelée "position infléchie" est représentée en trait discontinu.

Dans la position de repos du support mobile 204, un faisceau laser 222, provenant d'une source 220, 30 se réfléchit en formant un rayon réfléchi 224r.

Le rayon réfléchi 224r, dans la position de repos, vient en incidence sur un ensemble de détecteurs 226 en une première position 227r.

5 Dans la position infléchie du support mobile 204, un rayon réfléchi 224d vient en incidence sur les détecteurs en une deuxième position 227d, décalée par rapport à la première.

10 Pour une longueur de poutre L donnée, un angle de défexion α se traduit par un déplacement D du faisceau réfléchi entre les première et deuxième positions 227r, 227d sur les détecteurs 226.

Sur la figure, on a également représenté la défexion d , entre les deux positions du support mobile 204.

15 Dans l'exemple de la figure, avec une poutre 240 d'une longueur de 100 nm, avec un support mobile dont la demi-longueur ℓ est de 40 μm , une défexion d de 1 nm se traduit par un déplacement D du faisceau de 2,5 μm sur les détecteurs.

20

La figure 3 est un graphique logarithmique qui indique en ordonnée la défexion d'une poutre à son extrémité, en fonction de la variation du poids que supporte le support mobile.

25 La défexion, qui correspond à la défexion d sur la figure 2 est indiquée en ordonnée et exprimée en nanomètres.

La variation du poids (masse) est reportée en abscisse et exprimée en nanogrammes.

Les courbes C_1 , C_2 et C_3 du graphique sont établies avec un dispositif conforme à la figure 1, où le tronçon rectiligne extérieur le plus long de la poutre repliée en spirale est de $150 \mu\text{m}$, et où les 5 tronçons sont respectivement espacés de $5 \mu\text{m}$.

Pour la courbe C_1 , la largeur de la poutre est de $5 \mu\text{m}$ et son épaisseur de $1 \mu\text{m}$.

Pour la courbe C_2 , la largeur de la poutre est de $5 \mu\text{m}$ et son épaisseur de $3 \mu\text{m}$.

10 Pour la courbe C_3 , la largeur de la poutre est de $5 \mu\text{m}$ et son épaisseur de $5 \mu\text{m}$.

On observe une linéarité entre la variation du poids et la déflexion. Les courbes (droites) C_1 , C_2 , C_3 présentent une pente qui caractérise la raideur des 15 moyens flexibles de maintien (poutre). Le graphique permet, en connaissant la courbe (droite) de raideur, de déterminer la variation du poids en fonction de l'amplitude de la déflexion enregistrée.

La raideur des moyens flexibles est de 20 préférence ajustée pour que, en fonction d'une gamme de variations de poids envisagée, la partie de la courbe caractéristique correspondante se situe majoritairement au-dessus d'une ligne notée I. La ligne I correspond à des déflexions dont l'amplitude est supérieure ou égale 25 à 1 nm . Ces déflexions sont plus aisément détectables.

Les figures 4 à 8, décrites ci-après, indiquent les étapes d'un procédé de fabrication d'une plate-forme selon l'invention.

Pour des raisons de simplification, seules une partie d'une plate-forme comprenant un seul site d'analyse est représentée.

5 La figure 4 montre un substrat initial 10 comprenant une couche de base épaisse 12, servant de support, une couche sacrificielle intermédiaire 14 et une couche mince superficielle 16.

10 Le substrat est par exemple un substrat de type SOI (Silicon On Insulator, silicium sur isolant) dans lequel la couche de base et la couche superficielle sont en silicium et dans lequel la couche intermédiaire est en oxyde de silicium.

15 La couche superficielle 16 est utilisée pour fabriquer une poutre flexible qui se termine par un support mobile tel que décrit précédemment.

Pour ajuster la raideur de la poutre, il est possible de modifier l'épaisseur de la couche mince superficielle 16.

20 A cet effet, une épitaxie de silicium sur la couche superficielle 16 permet d'ajuster avec précision son épaisseur.

25 La figure 5 montre la formation d'un masque 18 sur la couche superficielle 16. Le masque présente un motif qui correspond à la forme et à l'emplacement de la poutre flexible et des supports mobiles que l'on souhaite réaliser.

Le masque est lui-même mis en forme par insolation et développement selon des techniques usuelles de micro-électronique.

5 Une première gravure sélective du silicium a alors lieu pour éliminer la partie de la couche mince de silicium non protégée par le masque. On obtient ainsi la structure de la figure 6.

10 La première gravure est par exemple du type gravure sèche en "Reactive Ion Etching" (gravure par ions réactifs), par exemple, en SF₆ ou BCl₃.

15 Cette gravure est sélective par rapport à l'oxyde de silicium, de sorte qu'elle est arrêtée par la couche sacrificielle enterrée 14. La couche de base 12 est par conséquent protégée.

20 La figure 7 montre la structure obtenue après l'élimination du masque 18. On distingue sur cette figure deux tronçons 20 de la poutre flexible vue en coupe, ainsi qu'une partie de support fixe 22.

25 Une deuxième gravure sélective, par voie chimique (FH), de la couche d'oxyde de silicium sacrificielle permet d'éliminer cette couche sous les parties mobiles, c'est-à-dire en particulier sous les tronçons 20 de la poutre flexible.

30 On observe sur la figure 8 que la deuxième gravure élimine également une partie de la couche sacrificielle correspondant au support fixe, c'est-à-dire en particulier en l'extrémité fixe de la poutre.

Toutefois, dans ces régions, la couche sacrificielle n'est pas complètement éliminée de sorte que le support fixe 22 et en particulier l'extrémité fixe de la poutre restent fermement solidaires de la couche de base 12.

5

DOCUMENTS CITES**(1)**

10 "High sensitivity micromachined biosensor"
D.R. Baselt - Proc. Of IEEE, vol. 85, n° 4, avril
97.

(2)

15 "Analysis and design of an interdigital cantilever
as a displacement sensor"
G.G. Yaralioglu - Journ. Of appl. Ph., vol. 83,
n° 12, 15 juin 1998

(3)

20 "Indépendant detection of vertical and lateral
forces with a sidewall-implanted dual-axis
piezoresistive cantilever"
B.W. Chiu - Appl. Ph. Letters, vol. 72, n° 11, 16
mars 1998

25

(4)

"Microfabrication of new sensors for scanning probe
microscopy"
W. Noël, - Journ. Micromech., 8, 1998.

30

(5)

"High resolution analysis of biological samples by scanning probe microscopy"

W.B. Stine, Europ. Micro. and Anal., nov. 1995.

5

(6)

"Microstructured polymer tips for scanning near-field optical microscopy"

H. Stürmer, Ultramicroscopy 71, 1998

10

(7)

"Balance approach for mechanical properties test of micro fabricated structure"

X. Xiong, SPIE, Vol. 3223.

15

REVENDICATIONS

1. Plate-forme d'analyse biologique ou chimique (10, 102) comportant au moins un support fixe (12, 22, 110) et au moins un premier support mobile (104a, 204) susceptible d'être garni de réactif, le support mobile étant relié au support fixe par des premiers moyens de maintien flexibles (20, 108a, 208) susceptibles d'être infléchis en réponse à une modification d'un poids supporté par le premier support mobile, les moyens de maintien flexibles comportant au moins une poutre flexible repliée présentant une première extrémité solidaire du support mobile et une deuxième extrémité solidaire du support fixe.

15 2. Plate-forme selon la revendication 1, dans laquelle le premier support mobile (104a) est garni d'un réactif chimique ou d'un réactif biologique.

20 3. Plate-forme selon la revendication 2, comprenant au moins un deuxième support mobile (104b) associé au premier support mobile (104a), le deuxième support mobile étant relié audit support fixe (110) par des seconds moyens de maintien flexibles (108b) et étant garni d'un matériau non réactif de façon à 25 présenter une masse égale à celle du premier support, garni de réactif.

4. Plate-forme selon la revendication 1, dans laquelle une partie de la poutre au voisinage de la

première extrémité de la poutre forme le support mobile.

5. Plate-forme selon la revendication 3,
comprenant une première poutre flexible (108a) de maintien du premier support (104a) mobile et une deuxième poutre flexible (108b) de maintien du second support mobile (104b), les première et deuxième poutres présentant des tronçons parallèles juxtaposés.

10

6. Plate-forme selon la revendication 5, dans laquelle le premier et deuxième supports sont sensiblement identiques et dans laquelle les première et deuxième poutres présentent des coefficients de raideur sensiblement les mêmes.

15 7. Plate-forme selon la revendication 1, dans laquelle la poutre présente une forme en spirale et le support mobile est ménagé sensiblement au centre de la spirale.

20 8. Plate-forme selon la revendication 1, dans laquelle le support mobile ou au moins une partie solidaire du support mobile présente une surface réfléchissante pour un faisceau laser.

25 9. Plate-forme selon la revendication 1, comprenant une pluralité de supports mobiles, reliés au support fixe.

30

10. Dispositif de lecture d'une plate-forme selon la revendication 1, comprenant au moins une source de lumière (120, 220) apte à produire un faisceau de lumière de lecture, des moyens (126, 226) pour diriger le faisceau vers au moins un support mobile, et des moyens de réception d'un faisceau réfléchi provenant du support mobile, et de détection de déplacements dudit faisceau réfléchi.

10 11. Dispositif selon la revendication 10, dans lequel les moyens (126, 226) de réception du faisceau réfléchi et de détection de déplacements comportent une pluralité de photodétecteurs.

15 12. Dispositif selon la revendication 10, dans lequel les moyens pour diriger le faisceau vers au moins un support mobile comportent des moyens (103) de déplacement relatif du faisceau et de la plate-forme pour balayer avec le faisceau une pluralité de supports mobiles de la plate-forme.

13. Procédé d'analyse biologique ou chimique au moyen d'une plate-forme conforme à la revendication 1, dans lequel :

25 - on équipe au moins un support mobile d'un réactif dont le poids est susceptible d'être modifié lors d'une réaction chimique ou biologique,

- on met en contact le support avec un milieu à analyser susceptible de contenir des espèces pouvant

réagir avec ledit réactif de façon à modifier son poids,

- on détecte un éventuel déplacement du support mobile par l'intermédiaire d'un faisceau de lumière dirigé vers et réfléchi depuis le support mobile.

14. Procédé de fabrication d'une plate-forme d'analyse selon la revendication 1, dans lequel :

- on forme un masque de gravure (18) sur un substrat (10) avec une couche sacrificielle (14) disposée entre une couche mince superficielle (16) et une couche de base (12), le masque de gravure présentant un motif qui définit l'emplacement et les dimensions du support mobile et des moyens de maintien flexible,
- on met en forme par gravure la couche mince superficielle selon le motif du masque,
- on élimine sélectivement la couche sacrificielle pour libérer le support mobile et les moyens de maintien associés.

15. Procédé selon la revendication 14, dans lequel le substrat est du type silicium sur isolant (SOI) dans lequel la couche de base et la couche mince superficielle sont en silicium et dans lequel la couche enterrée est en oxyde de silicium.

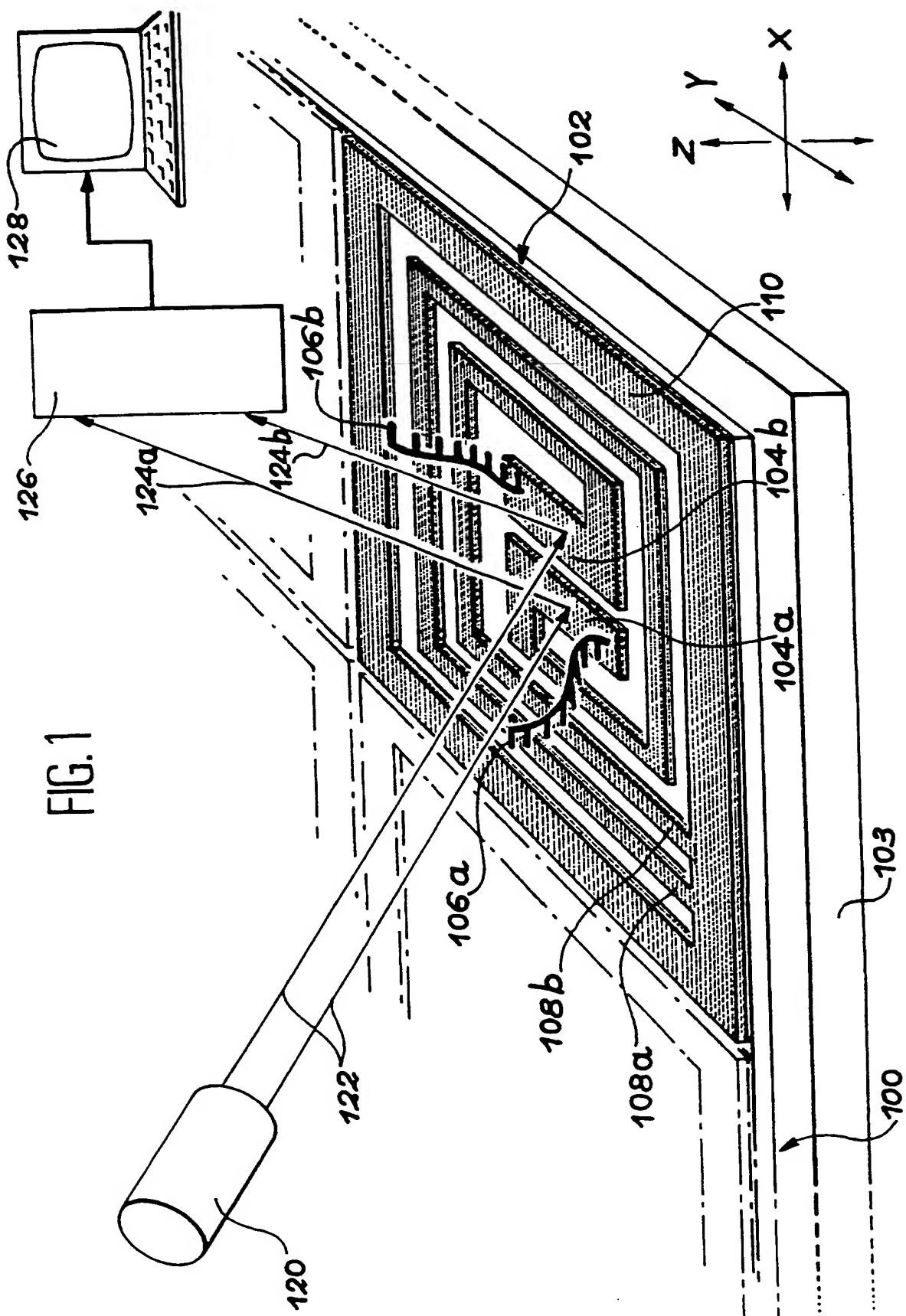


FIG. 2

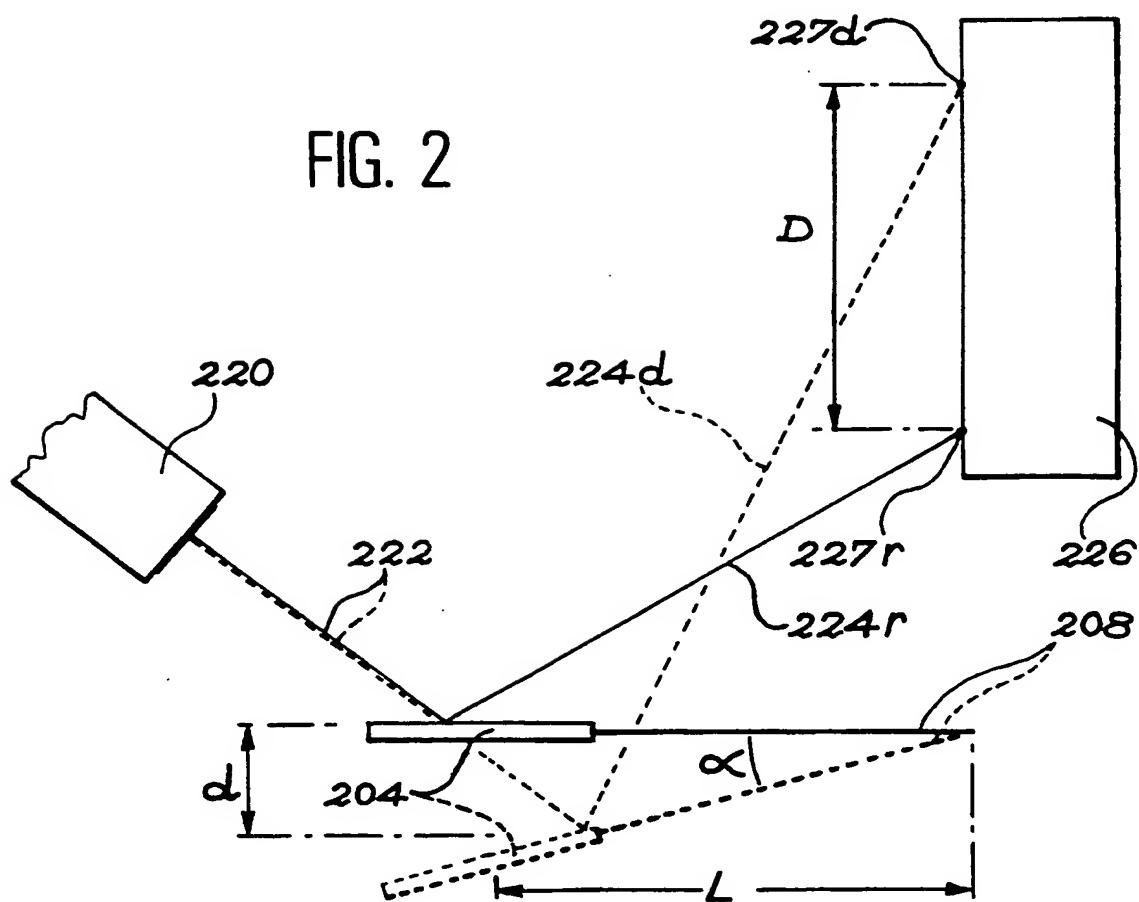
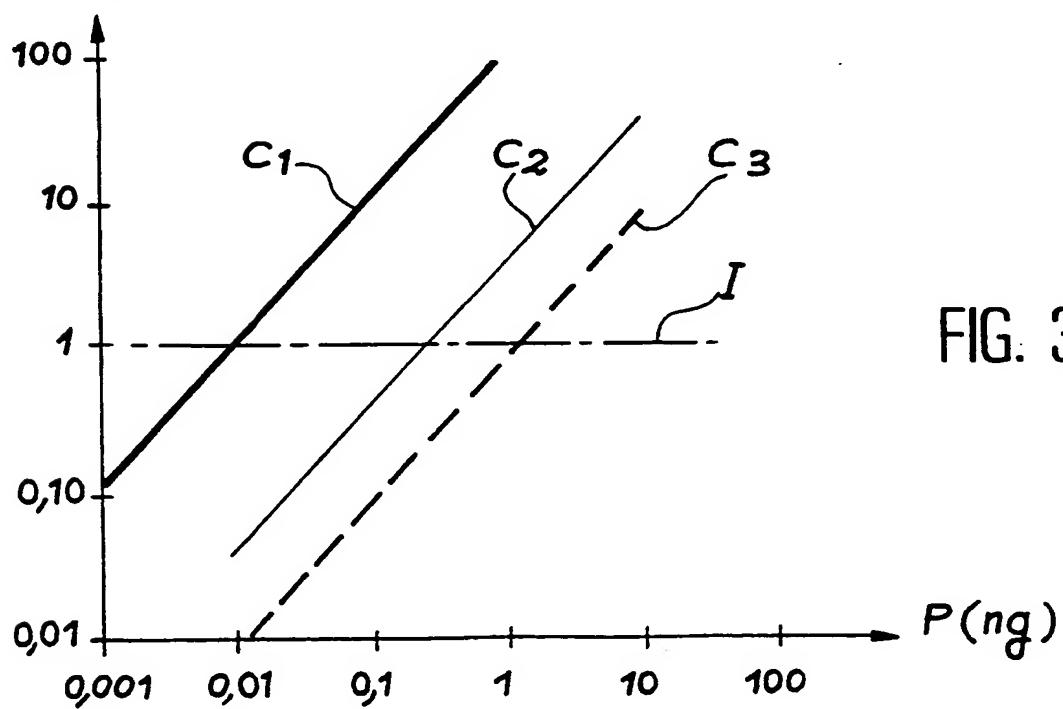
 d (nm)

FIG. 3

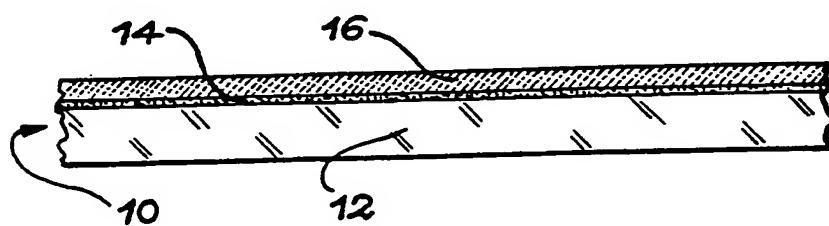


FIG. 4

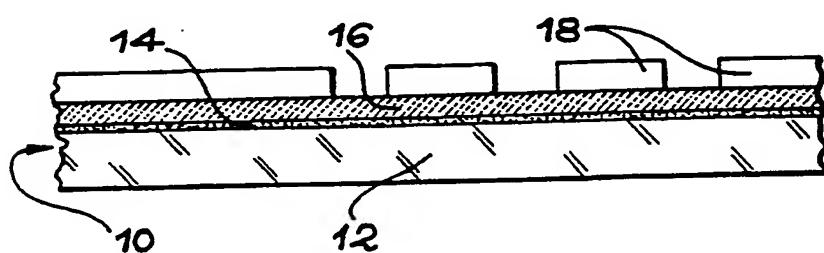


FIG. 5

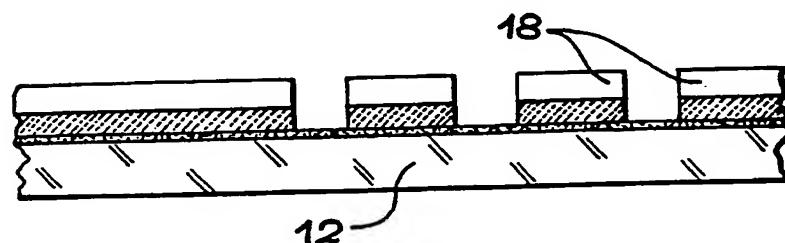


FIG. 6

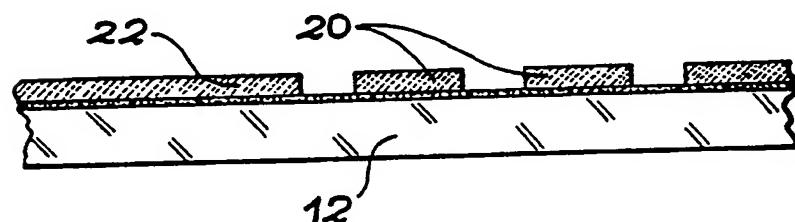


FIG. 7

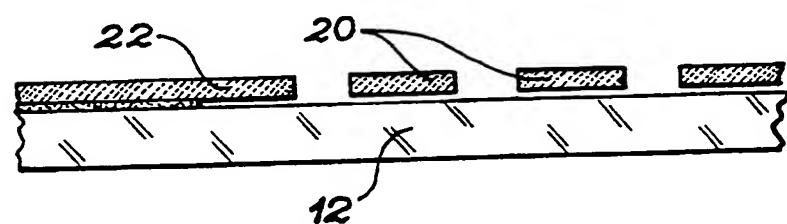


FIG. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/01556A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N5/02 G01G3/12 G01N33/487 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N G01G B01L C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 719 324 A (WACHTER ERIC A ET AL) 17 February 1998 (1998-02-17) abstract; figures 1,2,5 column 4, line 5 -column 5, line 14 column 7, line 65 -column 8, line 45 ---	1-15
A	WO 98 50773 A (UNIV MINNESOTA) 12 November 1998 (1998-11-12) abstract; figures 1-11 page 5, line 4 -page 7, line 10 page 7, line 31 -page 8, line 14 page 10, line 6 -page 10, line 19 ---	1-15
A	EP 0 072 744 A (BENDIX CORP) 23 February 1983 (1983-02-23) abstract; figures 1-7 page 1, line 24 -page 2, line 24 ---	1-7,9 -/-

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 July 2000

Date of mailing of the international search report

28/07/2000

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Runser, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/FR 00/01556

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 511 662 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 4 November 1992 (1992-11-04) abstract; figure 1 page 6, line 1 -page 6, line 21 -----	10-13
A	WO 94 18697 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 18 August 1994 (1994-08-18) abstract; figure 13 page 50, line 3 -page 50, line 10 -----	1,7,14, 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01556

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
US 5719324	A 17-02-1998	NONE			
WO 9850773	A 12-11-1998	NONE			
EP 0072744	A 23-02-1983	CA	1180914	A 15-01-1985	
		DE	3269822	D 17-04-1986	
		JP	58039929	A 08-03-1983	
EP 0511662	A 04-11-1992	JP	2561396	B 04-12-1996	
		JP	4330281	A 18-11-1992	
		DE	69212062	D 14-08-1996	
		DE	69212062	T 28-11-1996	
		JP	2653597	B 17-09-1997	
		JP	5093623	A 16-04-1993	
		US	5730940	A 24-03-1998	
		US	5363697	A 15-11-1994	
WO 9418697	A 18-08-1994	EP	0683921	A 29-11-1995	
		JP	8506857	T 23-07-1996	
		US	6051866	A 18-04-2000	
		US	5847454	A 08-12-1998	
		US	5719073	A 17-02-1998	
		US	5846849	A 08-12-1998	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/01556

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 G01N5/02 G01G3/12 G01N33/487 B01L3/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 G01N G01G B01L C12Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 5 719 324 A (WACHTER ERIC A ET AL) 17 février 1998 (1998-02-17) abrégé; figures 1,2,5 colonne 4, ligne 5 -colonne 5, ligne 14 colonne 7, ligne 65 -colonne 8, ligne 45 ---	1-15
A	WO 98 50773 A (UNIV MINNESOTA) 12 novembre 1998 (1998-11-12) abrégé; figures 1-11 page 5, ligne 4 -page 7, ligne 10 page 7, ligne 31 -page 8, ligne 14 page 10, ligne 6 -page 10, ligne 19 ---	1-15
A	EP 0 072 744 A (BENDIX CORP) 23 février 1983 (1983-02-23) abrégé; figures 1-7 page 1, ligne 24 -page 2, ligne 24 ---	1-7,9 -/-



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

24 juillet 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

28/07/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentstaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Runser, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/01556

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 511 662 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 4 novembre 1992 (1992-11-04) abrégé; figure 1 page 6, ligne 1 -page 6, ligne 21 -----	10-13
A	WO 94 18697 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 18 août 1994 (1994-08-18) abrégé; figure 13 page 50, ligne 3 -page 50, ligne 10 -----	1, 7, 14, 15

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 00/01556

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)			Date de publication
US 5719324	A	17-02-1998			AUCUN
WO 9850773	A	12-11-1998			AUCUN
EP 0072744	A	23-02-1983	CA	1180914 A	15-01-1985
			DE	3269822 D	17-04-1986
			JP	58039929 A	08-03-1983
EP 0511662	A	04-11-1992	JP	2561396 B	04-12-1996
			JP	4330281 A	18-11-1992
			DE	69212062 D	14-08-1996
			DE	69212062 T	28-11-1996
			JP	2653597 B	17-09-1997
			JP	5093623 A	16-04-1993
			US	5730940 A	24-03-1998
			US	5363697 A	15-11-1994
WO 9418697	A	18-08-1994	EP	0683921 A	29-11-1995
			JP	8506857 T	23-07-1996
			US	6051866 A	18-04-2000
			US	5847454 A	08-12-1998
			US	5719073 A	17-02-1998
			US	5846849 A	08-12-1998